

強心配糖体のコリンエステラーゼ活性に及ぼす影響

第2報 強心配糖体の特異的コリンエステラーゼ活性に及ぼす影響

篠 原 護

札幌医科大学薬理学教室 (主任 田辺教授)

Effects of Cardiac Glycosides on Cholinesterase Activity

II. Influences of Cardiac Glycosides on Specific Cholinesterase Activity

By

MAMORU SHINOHARA

Department of Pharmacology, Sapporo University of Medicine

(Chief: Prof. T. TANABE)

第1報¹⁾において私は Digitoxin, g-Strophanthin 及び Convallatoxin の猫血清 Cholinesterase (以上 ChE と略記) の活性に及ぼす影響を実験的に追究し、強心配糖体の注射量と ChE 活性の変化との間には極めて密接な関係が存在し、また同じく強心配糖体といわれるものでも Digitoxin と g-Strophanthin 及び Convallatoxin とでは猫血清 ChE 活性に及ぼす影響がそれぞれ異なることを明らかにし、さらにこれ等の影響が直接心臓作用と関係あるとは思われないとの推察を下した。

第1報において私は ChE の酵素源として猫血清を用いたが、一方赤血球にも強い ChE 作用が有り、人間の場合では血清は非特異的 ChE を含むのに対し、血球は脳及び筋肉中と同じく特異的 ChE を含むということが Alles & Hawes²⁾ により発見された。猫においても Koelle³⁾ の研究により血清肝臓及び腎臓等には非特異的 ChE が、赤血球、脳及び心臓等には特異的 ChE が含まれていることが明かになった。私はこれ等の実験結果に従い、第1報で各種強心配糖体と非特異的 ChE 活性との関係を追究したのであるが、この度猫血球 ChE、即ち特異的 ChE 活性に及ぼす強心配糖体の影響を観察する目的で本実験を企画した。

実験方法

実験動物としては体重 2~4 kg の健康猫を用いた。Urethane 麻酔を施した後に固定台に背位に固定し、一側後肢を切開して股動脈にカニューレを挿入して、ここから薬物の静脈内注射を行えるようにし、さらに他側の後肢を切開

して股動脈を露出せしめここから採血を行えるようにした。

使用した薬物は Digitoxin (Merck), g-Strophanthin (British Drug Houses) 及び Convallatoxin (L-Light) である。Digitoxin は 1:1,000 のアルコール溶液にして保存しておき、これを注射直前に Ringer 液で 10 倍に希釈して 1:10,000 の濃度としたものを注射した。g-Strophanthin は 1:1,000 の水溶液にして保存しておき、注射直前に Ringer 液で希釈して 1:20,000 の濃度にしたものを注射した。Convallatoxin は 1:1,000 のアルコール溶液にして保存しておき、注射直前に 1:20,000 の濃度に Ringer 液で希釈したものを注射した。

以上3種の強心配糖体溶液をいずれも5分間隔で一定量宛注射した。この際その1回の注射量は推定される致死量の1/10の量としたのであつて、その容量は概ね 0.5 cc/kg 見当になつたのであり、しかもこの量を毎回可及的同一速度 (1 cc/m の速さ) で注射するように注意した。対照実験には、強心配糖体の溶媒として用いたアルコール・リンゲル溶液のみを5分間隔で前者と同様に一定量宛注射した。

採血は注射開始前にその第1回目の採血を行い、その後注射開始後10分間隔で行い、死亡前まで続けた。採血するに当つては溶血を防ぐため股動脈を切断して、その断端をクレンメで止めて血液の流出するのを止めておき、採血の都度この断端を直接に小試験管壁を伝わらして静かに血液を放流せしめて採取した。この際注射器等の器具は一切用いないようにした。

採取血液には二重酢酸塩を加えて血液凝固を阻止した。

使用した二重碳酸塩溶液の処方は次の如くである。碳酸アンモン 1.2 g, 碳酸カリウム 0.8 g, 蒸留水を以て全量を 100 cc にする。この溶液を小試験管に正確に 0.1 cc とり 60°C 以下の温度で乾燥器内で乾燥させると完全に水分が蒸発し去り白い粉末のみが残るに至る。このようにして用意しておいた小試験管に血液 1 cc を取り混和すると血液凝固は阻止される。次いでこれを遠心沈澱し血清と血球を分離して、血清をとり除きさらに 3 回 Ringer 液でこの血球を洗滌した。また同時にウイントローベ管でヘマトクリット値を測定してその値を利用して上記血球の 10% (容量) Ringer 浮遊液を作製した。この血球浮遊液を酵素源として ChE 活性測定に用いた。但しこの場合の使用 Ringer 液の処方は次の如くである。即ち 0.9 g/dl NaCl 100 cc に 1.22 g/dl CaCl₂ を 20 cc, 1.15 g/dl KCl を 2 cc, さらに 1.3 g/dl NaHCO₃ を 20 cc 加えて混合した。

基質液としては上記 Ringer 液に溶解した Acetylcholine の 0.0025 M 溶液を用いた。

ChE 活性の測定は Ammon 氏法にならつて Warburg 検圧計を用いて行つた。即ち容器の主室には基質液を 1.5

cc, 副室には酵素溶液 0.5 cc を入れた。なおこれらの 2 液はいずれも予め CO₂:N₂ = 2:98 の混合ガスを以て飽和せしめておいたものを使用した。またガス腔にはこの混合ガスを充し、恒温槽温度を 37°C にして、振盪は毎分 90 回とした。測定時間は 30 分とした。その他詳細は既に第 1 報で述べたので省略する。

実験結果

1. 対照実験群: 強心配糖体の溶媒として用いたアルコールリンゲル液のみを一定量注射した場合の血球 ChE 活性は第 1 表に記した如くである。この場合の 1 回注射量は 0.5 cc/kg である。

第 1 表より分る如く、注射回数が 12 回に及んだ時にも ChE 活性は、注射前のそれと比較して有意の差を示さなかつた。それ故私の行つた以後の実験においてもアルコールリンゲル溶液注射の ChE 活性に及ぼす影響は無視しても良いことが明かになつた。

2. Digitoxin 注射群: Digitoxin 溶液を一定量宛注射して、注射量と血球 ChE 活性との関係を調べた結果は第

第 1 表 アルコール・リンゲル溶液の注射量と猫血球 ChE 活性との関係

動物 No.	性	体 重 (kg)	注射前値	注 射 回 数					
				2	4	6	8	10	12
1	♂	3.5	5.30	5.31	5.35	5.40	5.10	5.30	5.25
2	♂	2.5	5.40	5.40	5.25	5.20	5.30	5.20	5.50
3	♀	3.2	5.50	5.40	5.30	5.60	5.70	5.50	5.50
4	♂	2.6	4.75	4.80	4.90	4.60	4.50	4.80	4.80
5	♀	2.8	4.80	4.90	4.70	4.60	4.65	4.70	5.00
平 均			5.15	5.16	5.10	5.08	5.05	5.10	5.21

* 実験数値は ACh の分解による CO₂ の産生量を cmm で現わしたものである。

第 2 表 Digitoxin 溶液の注射量と猫血球 ChE 活性との関係

動物 No.	性	体 重 (kg)	致死量 (mg/kg)	注 射 前 値	注 射 回 数					
					2	4	6	8	10	12
101	♂	3.5	0.485	5.40	6.10	5.60	5.30	5.20	4.80	
102	♂	3.5	0.534	5.55	6.30	5.60	5.05	5.35	5.00	
103	♀	3.0	0.500	4.95	5.15	5.00	4.70	4.35	4.00	
104	♂	2.5	0.450	5.60	6.40	5.90	5.45	5.05		
105	♂	4.0	0.550	4.90	5.25	5.10	4.90	4.60	4.30	
106	♀	3.0	0.500	5.20	5.65	5.30	4.95	4.80	4.50	
平 均			0.508	5.27	5.80	5.41	5.06	4.89		

* 実験数値は ACh の分解による CO₂ の産生量を cmm で現わしたものである。

2表に示す如くである。

第2表に示す如く、Digitoxin 溶液注射群の全例において、注射回数が2回に達した後は ChE 活性が注射前値に比して明かに増しているが、その後回数増加に従い漸次抑制されることが認められた。そこで注射前値、2回注射後、及び8回注射後の ChE 活性の平均値の間の差を、“Student” の t -test で検定して

$$t_2 = 3.437 \cdots > 2.015$$

$$t_8 = 5.228 \cdots > 2.015 \quad (\text{危険率 } 1\%)$$

を得た。但し t_2 は2回注射後の、 t_8 は8回注射後の値をそれぞれ注射前の平均値と比較したものである。

この結果から Digitoxin 溶液の注射により猫血球 ChE 活性は少量で促進され、大量で抑制を受けることが明かとなった。

3. g-Strophanthin 注射群: g-Strophanthin 溶液の注射によつて猫血球 ChE 活性は第3表に示す如き影響を受けた。即ち g-Strophanthin 溶液注射群においては、ChE 活性は全例において注射回数が2回に達した時注射前に比して促進を示し、その後注射回数が増加するに従い、漸次

ChE 活性は抑制されることが認められた。この場合にも、2回目の値及び8回の値と、注射前値との差をそれぞれ t -test で検定すると

$$t_2 = 8.673 \cdots > 2.015$$

$$t_8 = 4.727 \cdots > 2.015 \quad (\text{危険率 } 1\%)$$

となり、何れも明かに有意の差を示している。

この結果から g-Strophanthin 溶液の注射によつて、猫血球 ChE 活性は少量で促進され、大量で抑制されることが明かになった。そしてこの結果は Digitoxin の場合と全く類似の傾向を示している。

4. Convallatoxin 注射群: Convallatoxin 溶液を注射した場合の ChE 活性は第4表に示す如くである。即ち Convallatoxin 溶液注射群においては、ChE 活性は全例において注射回数が2回に達した時に明かな促進を示し、その後注射回数が増加するに従い漸次抑制された。前2者の場合と同様に t -test で検定すると

$$t_2 = 8.983 \cdots > 2.132$$

$$t_8 = 7.073 \cdots > 2.132 \quad (\text{危険率 } 1\%)$$

を得た。但し t_2 は2回注射後の、 t_8 は8回注射後のもので

第3表 g-Strophanthin 溶液の注射量と猫血球 ChE 活性との関係

動物 No.	性	体 重 (kg)	致死量 (mg/kg)	注射前値	注 射 回 数				
					2	4	6	8	10
201	♂	3.0	0.093	5.15	5.65	5.67	4.85	4.10	3.70
202	♂	3.8	0.083	5.24	6.25	5.76	4.90	4.20	
204	♀	3.5	0.090	5.47	6.20	5.96	5.10	4.45	
205	♀	2.7	0.090	5.62	6.20	6.30	5.25	4.80	
206	♂	4.0	0.100	4.85	5.39	5.30	4.55	3.90	
209	♂	3.5	0.080	5.27	5.90	5.80	4.90	5.30	
平 均			0.089	5.27	5.93	5.78	4.93	4.46	

* 実験数値は ACh 分解による CO₂ 産生量を cmm で現わしたものである。

第4表 Convallatoxin 溶液の注射量と猫血球 ChE 活性との関係

動物 No.	性	体 重 (kg)	致死量 (mg/kg)	注射前値	注 射 回 数				
					2	4	6	8	10
301	♂	3.5	0.070	5.40	6.30	6.10	5.20	4.60	4.50
302	♀	3.0	0.063	4.80	5.25	5.50	4.65	3.80	4.25
304	♂	4.0	0.073	5.20	6.15	6.00	4.90	4.40	
305	♀	3.5	0.056	4.70	5.35	5.40	4.60	3.65	
306	♂	3.6	0.062	5.50	6.25	6.45	5.20	4.80	
平 均			0.064	5.12	5.86	5.90	4.91	4.25	

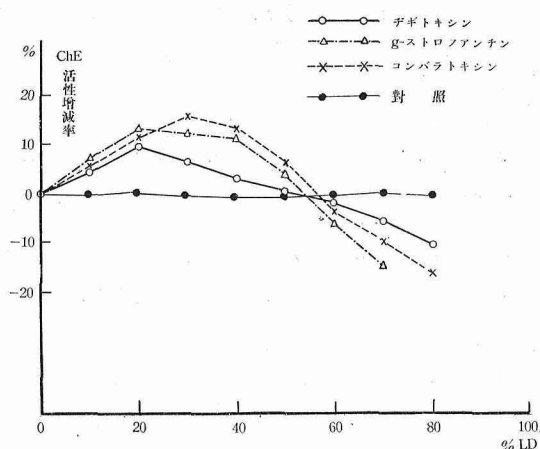
* ※実験数値は ACh 分解による CO₂ 産生量を cmm で現わしたものである。

ある。

この結果から Convallatoxin 溶液の注射によつても、Digitoxin 及び g-Strophanthin 注射時と同様に、少量で ChE 活性の促進効果が、大量で抑制効果が観察された。

総括及び考按

以上の実験結果を総括するに、今各種強心配糖体の注射量をその実際の致死量から逆算し、致死量の%に換算して横軸にとり、また ChE 活性の変化量をその注射前値の%で表わして縦軸に取る時は、上記の実験成績は第1図の如



第1図 強心配糖体と猫血球 ChE との関係

くになる。図から明かな如く、いずれの強心配糖体もその血球 ChE 活性を最初の段階では促進せしめ、次で注射量増加に伴ない漸次抑制の段階に移行することが認められる。

Digitoxin の場合は致死量の約20%が注射された時は、ChE 活性は正常時のそれに比して約10%の促進を見、致死量の80%が注射された時には逆に約10%の阻害を示している。但しこれ等の値を他の二つの強心配糖体の値と比較すると、その促進、抑制双方とも程度が弱いことが知られる。

g-Strophanthin 及び Convallatoxin の二者は、僅かの差はあるがしかし大体類似した効果を示し、促進値は13~14%で、抑制値は致死量の80%が注射された時期では15~25%前後である。

強心配糖体の種類によつて猫血球 ChE 活性に及ぼす効果が異なるという上記の所見は、第1報についての猫血清

を用いた観察と相俟つて、ChE 活性に及ぼす効果の点で、Digitoxin と g-Strophanthin 及び Convallatoxin との間には明かに差異が存在すると結論してもいいように思われる。これ等の差異は各強心配糖体固有の性質に由来するものと想像される。

以上は強心配糖体の ChE 活性に及ぼす促進作用及び抑制作用の量的関係についてのみ述べてきたのであるが、私の実験結果はさらに強心配糖体と ChE との間の作用速度についても新しい知見を提示している。即ち第1図で見られる如く、g-Strophanthin 及び Convallatoxin の作用曲線は Digitoxin のそれに比して勾配が急峻である。今 Digitoxin, g-Strophanthin 及び Convallatoxin による ChE 活性の変化した量をそれぞれ Q_D , Q_{st} , Q_c とすると、これを時間 t で微分した

$$\frac{dQ_D}{dt}, \quad \frac{dQ_{st}}{dt}, \quad \frac{dQ_c}{dt}$$

の間には次の如き関係が見られることになる。

$$\frac{dQ_{st}}{dt} > \frac{dQ_c}{dt} > \frac{dQ_D}{dt}$$

この事実は強心配糖体を投与してから強心作用ないしは中毒作用を呈するに至るまでの所要時間を左右する一因子となり得るものと思われる。

結 論

Digitoxin, g-Strophanthin 及び Convallatoxin の猫血球 ChE 活性に及ぼす影響を観察し、これ等の強心配糖体は何れもその少量で活性を促進せしめ、大量で抑制することを認めた。しかしてその効果に関する各強心配糖体間の差を考察すると、Digitoxin の作用は g-Strophanthin 及び Convallatoxin のそれに比して時間的には徐々に起り、且つその程度も幾分軽度なることを認めた。

(昭和30.7.5受付)

文 献

- 1) 篠原：札幌医誌 8, (1955).
- 2) Alles, G. A. & Hawes, R. C.: J. Biol. Chem. 133, 375 (1940).
- 3) Koelle, G. B.: J. Pharmacol. & Exper. Therap. 100, 153 (1950).
- 4) Ammon, R.: Pflügers Arch. 233, 486 (1934).

Summary

A study was conducted on effects of digitoxin, g-strophanthin and convallatoxin on specific cholinesterase with manometric techniques, by using cat erythrocytes. It was demonstrated that the three glycosides in small doses accelerate the activity of specific cholinesterase, but inhibit it in the cases of large doses.

And it was observed that digitoxin produces a slower and slighter degree of action on cholinesterase, as compared to g-strophanthin and convallatoxin.

From these results, it is suggested that cardiac action of the glycosides is connected with the action on specific cholinesterase to a certain extent.

(Received July 5, 1955)